

## Aplicación de la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966) para la determinación del nivel de digestibilidad en alimentos para camarón



## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo fue desarrollado gracias al apoyo del Gobierno Japón y el Centro de Investigación de Ecosistemas Acuáticos de la Universidad Centroamericana, bajo la asesoría de la experta Mexicana Crisantema Hernández, Msc. Procedente del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, CIAD, A.C. Unidad–Mazatlán, México, como parte del Programa del Gobierno de Japón a través de los terceros países, siendo este trabajo un componente del Proyecto: Fertilidad Acuática.

---

**Directora de Investigación**

*MSc. Agnés Saborío Coze*

**Investigadores**

*MSc. María Cristina Espinoza*

**Colaboradores**

Luis Enrique Hernández Santamaría  
Violeta Escorcia Baldelomar

---

**Edición y diseño**

*MSc. María José Almanza Abud*  
*Lic. Raúl Lenín Rivas*

## RESUMEN

En la aplicación de la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966) para valorar la calidad de alimentos balanceadas de camarón, se utilizó una dieta experimental y una comercial, determinándose que la dieta experimental presentó mejor digestibilidad de materia seca y la dieta comercial mejor digestibilidad proteica.

### **Referencia Bibliográfica:**

Espinoza, María C. 2007. Aplicación de la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966) para la determinación del nivel digestibilidad en alimentos para camarón. Managua, Nicaragua. 26 Páginas.

## INDICE DE CONTENIDO

<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>6</b>
<b>II. OBJETIVOS .....</b>	<b>7</b>
2.1 Objetivo General.....	7
2.2 Objetivo Específico .....	7
<b>III. MARCO TEORICO .....</b>	<b>8</b>
3.1 El estudio de la digestibilidad proteica presenta un doble interés .....	8
3.2. La digestibilidad de un nutriente puede ser estimada por dos métodos: .....	8
3.3. Características del marcador.....	8
<b>IV. MATERIALES Y METODOLOGÍA .....</b>	<b>10</b>
4.1. Sistema Experimental .....	11
4.2. Origen de los organismos .....	12
4.3. Aclimatización.....	12
4.4. Preparación de los alimentos .....	10
4.5. Procedimiento experimental .....	12
4.6. Determinación de óxido de cromo (Furukawa y Tsukahara, 1966). Hernández (2002). .....	13
<b>V. RESULTADOS .....</b>	<b>11</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>19</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>19</b>

## I. INTRODUCCIÓN

En acuicultura se tiene como propósito transformar el alimento, de manera rápida y eficiente, en producto comercial. El uso del alimento balanceado puede mejorar la producción de camarón e incrementar las utilidades. Sin embargo, los alimentos son caros y pueden variar del 50 al 70% del total de los gastos variables de producción. Por lo tanto, la calidad y el costo del alimento son factores críticos para la rentabilidad de una granja camaronera.

Recientemente se ha cuestionado de manera muy seria y permanente los efectos que ha producido la acuicultura en el deterioro de los ambientes lagunar-estuarino y marino, se ha reconocido que los desechos de las granjas, a través del alimento no consumido y los productos del metabolismo, han contribuido a la eutroficación del ambiente acuático. En estudios recientes se ha demostrado que es imperativo el uso de alimentos amigables, que produzcan menos desechos de nitrógeno y de fósforo al medio ambiente, por lo que el estudio de la digestibilidad en los alimentos ha tomado un gran interés, debido a que la digestibilidad es esencial, en la determinación de la calidad de un alimento; asimismo el conocimiento de la digestibilidad de las materias primas permite realizar una formulación más precisa de la dieta, pudiendo disminuir la cantidad de proteína.

En Nicaragua, la industria acuícola solo cuenta con una planta productora de alimento balanceado para camarón, por lo que el excedente de la demanda es suplida por alimentos importados, distribuyéndose diferentes marcas, las cuales brindan información en sus etiquetas sobre el tipo de materiales con las cuales fueron elaborados, así como su composición nutricional, de proteínas, grasas, fibra entre otros, pero ninguno reporta el nivel de digestibilidad de éstos.

El Centro de Investigación de Ecosistemas Acuáticos, ha realizado diferentes investigaciones, relacionada con el efecto que puedan ejercer las dietas sobre el crecimiento de los camarones, así como de ciertas materias primas. Con el fin de continuar colaborando con el desarrollo de la industria, se realizó el estudio de aplicación de la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966) para determinar el nivel digestibilidad en alimentos para camarón.

Esta técnica nos permitirá conocer la calidad del alimento midiendo su nivel de digestibilidad proteica y de materia seca, con lo que se contribuirá a que el productor compre alimentos que tengan asimilación por parte del camarón, lo que se convierte en crecimientos óptimos y mejores producciones y a su vez en una mejor rentabilidad de la granja.

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo General**

Aplicar la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966) para determinar el nivel de digestibilidad en alimentos para camarón.

### **2.2 Objetivo Específico**

Determinar la calidad de dos dietas una experimental y una comercial, midiendo su nivel digestibilidad proteica y de materia seca.

### **Justificación**

La aplicación de la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966) para valorar la calidad de alimentos para camarón, a través de la determinación del nivel o porcentaje de digestibilidad proteica y de materia seca en dos dietas balanceadas para camarón, será de mucha importancia debido a que en el país, no se han realizados trabajos similares, que permitan brindar información de utilidad para la industria acuícola, con la cual no solo se podrá determinar el nivel de digestibilidad de los alimentos, sino que también el de materias primas, lo cual permitirá a las procesadoras de alimento realizar formulaciones precisa de los alimentos, con el consecuente desarrollo de dietas nutricionalmente completas y además económicamente accesibles, ya que se podría disminuir la cantidad de proteína o bien utilizar fuentes de proteína de menor costo, reduciendo así substancialmente el precio del alimento, lo que beneficia al productor, debido a que podrá adquirir alimentos de mayor eficacia ó alimentos asimilables por los camarones lo que se transforma en mejores crecimientos de los mismos.

### III. MARCO TEORICO

Determinar el nivel de digestibilidad de un alimento es esencial, debido a que permite conocer la calidad de éstos; asimismo el conocimiento de la digestibilidad de las materias primas permite realizar una formulación más precisa de la dieta, pudiendo disminuir la cantidad de proteína.

#### **El estudio de la digestibilidad proteica presenta un doble interés**

1) Adaptar las fórmulas alimenticias a los problemas específicos que presentan la intensificación de los cultivos. En este caso el conocimiento de la digestibilidad de las materias primas permite la formulación precisa de los alimentos con el consecuente desarrollo de dietas nutricionalmente completas y además económicamente accesibles, ya que se podría disminuir la cantidad de proteína o bien se podrían utilizar fuentes de proteína de menor costo, reduciendo así substancialmente el precio del alimento. (Brown et al.; 1989; Akiyama, 1986).

2) Preservar la calidad del medio en que viven los organismos sobre todo cuando la cantidad de agua es limitada. (Chourbert; 1983). Según Spyridiakis et al. , et al 1989a; Hajen et al., 1993<sup>a</sup>), citado por Mendoza Roberto (1993), la determinación de la digestibilidad es necesaria para minimizar los desechos nitrogenados fecales y por ende la contaminación de los cultivos.

#### **3.1. Métodos para determinar la digestibilidad**

Método cuantitativo o Método directo

Método con marcadores o método indirecto

**En este estudio se aplicó el método con marcadores o método indirecto.**

El principio de este método radica, en medir la concentración del producto estudiado con respecto a un marcador inerte incorporado dentro de alimento, en bajas cantidades. Para este propósito se compara la relación del marcador existente en el alimento y en las heces.

#### **3.2. Características del marcador**

Según, Calow and Feltcher, citado por Lavitt, 1985; Bowen, 1978; Foltz, 1979; Leavitt, 1985, citados por Mendoza Roberto, 1993. La utilización de cualquier compuesto de referencia se debe apegar a las siguientes exigencias:

- Estar uniformemente en la dieta
- Ser absolutamente inerte, i.e. debe resistir a las secreciones gástricas y digestión enzimática
- No debe ser absorbible ni metabolizable.
- No debe influenciar los fenómenos de absorción, digestión, y secreción ya sea de manera sinérgica o antagónica.



- Debe tener la misma velocidad de tránsito que el ingrediente que se evalúa ya que es el punto de referencia.
- Debe de preferencia ser rápidamente medible.
- No debe influenciar la tasa de ingestión de la dieta.

**Existen dos categorías de marcadores:** a) Los que se presentan de manera inherente en el alimento (internos) y b) los que se agregan externamente.

**Marcadores internos:** fibra, ceniza, Cromógenos y Lípidos.

**Marcadores externos al alimento:** metales, polímeros, materia orgánica resistente a la hidrólisis, componentes minerales insolubles y óxido de cromo.

**En el estudio se utilizó como marcador el óxido de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ).**

Según Tacon y Rodríguez(1984), citado por Mendoza Roberto (1993), de todos los marcadores utilizados hasta el momento es el que mejores resultados ha dado ya que cumple con la mayor parte de los requisitos y por lo tanto ha sido el más empleado.

Algunos de los inconvenientes que se han registrado, al usar este marcador, están asociados con una velocidad de tránsito diferente a la del alimento en ciertas especies o con niveles de inclusión elevados. Así, ha sido señalada la importancia de que este marcador se incluya en bajas proporciones ya que se ha reportado que al 2%, se mueve a una velocidad mayor que el alimento en el tracto digestivo.

Se ha encontrado en los crustáceos como en los carideos (*Palaemon serratus* y *Penaeus* *Platycephalus*) al existir partículas indigeribles en la dieta, que no pasan de la barrera proventricular, se establecía un tránsito diferencial provocando que el marcador pasara antes al canal alimenticio (Forster y Gabbott, 1971), citado por Mendoza Roberto (1993).

Según De Silva (1985), citado por Mendoza Roberto (1993), se han emitido diferentes razones para justificar el pasaje diferencial del marcador con respecto al alimento en el tracto digestivo. Se ha señalado que un alimento peletizado y un extruido no se mueven a la misma velocidad debido a la diferencia de densidades específicas, implicando que la densidad de la dieta influya sobre la velocidad de tránsito

Según Calow y Fletcher, citado por Leavitt (1985), citado por Mendoza Roberto (1993), se ha mencionado la posibilidad de que el organismo absorba una porción de cromo y el inconveniente de poder incorporar este marcador (así como la de otros marcadores externos) en dietas naturales como algas.

## **IV. MATERIALES Y METODOLOGÍA**

El presente trabajo de aplicación de la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966) para determinar el nivel de digestibilidad de materia seca y de proteína en dos dietas balanceadas para camarón, se realizó en el área de Nutrición y Alimentación y en el Laboratorio de Bioensayos, en las instalaciones del Centro de Investigación de Ecosistemas Acuáticos de la Universidad Centroamericana (CIDEA-UCA), ubicado en la Ciudad de Managua, Nicaragua.

Este trabajo se desarrolló en tres fases:

- I. Preparación de las dietas.
- II. Experimentación de las dietas.
- III. Desarrollo de la técnica.

### **4.1. Preparación de los dietas.**

En la aplicación de la técnica se utilizaron dos dietas balanceadas.

Una dieta formulada y elaborada en el Área de Nutrición (dieta experimental) y una dieta comercial

El óxido de cromo ( $\text{Cr}_2\text{O}_3$ ) se usó como marcador en los alimentos para evaluar los coeficientes de digestibilidad aparente, con porcentaje de inclusión del 1%.

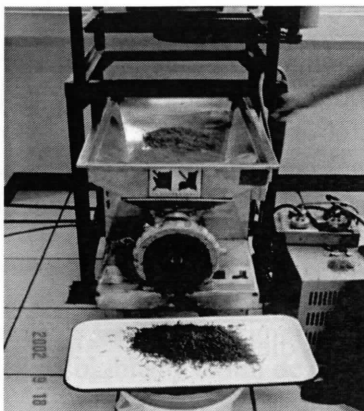
#### **Alimento comercial**

En el caso del alimento comercial se molieron los pelet en el pulverizador Nakayasu, los pelet pulverizados, se mezclaron con una mezcladora manual y se le adicionó el óxido de cromo y se continuó mezclando, hasta homogenizar todo el marcador, se le adicionó agua y se peletizó nuevamente.

#### **Alimento experimental**

Los ingredientes de la formula, así como el marcador (óxido de cromo), se mezclaron con la ayuda de un mezcladora manual, hasta su total homogenización, posteriormente se le agregó agua hasta obtener una masa, que finalmente se hizo pasar por el peletizador marca Nakayasu.

*Fig.1. Elaboración de alimentos*



### **Secado de los pelet**

Los pelet se secaron en un horno a 50 °C por 12 h. Una vez secado tanto el alimento comercial como del experimental, se trituraron en tamaños apropiados para la alimentación del camarón. Posteriormente se almacenaron a temperatura de congelación y solo pequeñas porciones de cada alimento se colocaron en frascos pequeños para la alimentación diaria de los organismos.

*Fig. 2 Alimento marcado con óxido de cromo, presenta un color verde*



### **4.2. Sistema Experimental**

Para la experimentación de las dietas se utilizó el dispositivo experimental ubicado en el Laboratorio de Bioensayos, que consta de 18 cajas plásticas, con medidas de: 47.5 x 32 x 19.5 cm, conectadas a tuberías de PVC para la entrada y salida de agua, debido a que se tiene un sistema de recirculación, el agua es filtrada a través de un filtro de arena, se utilizó agua de mar, con volumen en las cajas de 25 litros en cada una de ellas.

Las cajas se cubrieron con una malla para evitar que los camarones se salieran y evitar pérdidas. Para las operaciones de alimentación, lavado de los acuarios y colecta de heces, la malla se levantó de uno de los extremos para facilitar las maniobras.

La limpieza de las cajas se llevó a cabo con la ayuda de una manguera plástica de media pulgada, con la cual se aspiró el fondo de las cajas. Las heces se recolectaron por sifoneo, utilizando una manguera de plástico.

Para oxigenar a los organismos se empleó un sistema de aireación constante.

#### **4.2.1. Origen de los organismos**

Para el presente experimento se emplearon camarones de la especie *Litopenaeus vannamei*, con un intervalo de peso de 10 a 12 gramos., proveniente de la Granja-Escuela del CIDEA-UCA localizada en Puerto Morazán, Chinandega a 170 Km de la ciudad de Managua.

Los camarones se trasladaron a las instalaciones del CIDEA-UCA, en un tanque de plástico, con oxigenación.

#### **4.2.2. Aclimatización**

Los camarones se aclimataron por cinco días, confinándose 5 organismos en cada caja del sistema experimental, se alimentaron *ad libitum* tres veces al día, utilizado durante el período de aclimatación, alimento de origen comercial.

#### **4.2.3. Procedimiento experimental**

Los camarones ya aclimatados en sus correspondientes acuarios 3 días antes de iniciar la recolección de heces se alimentaron con los alimentos marcados y el cuarto día no se alimentó. A partir del quinto día se inició la recolecta de las heces. Esta metodología se empleó para eliminar totalmente el error de utilizar muestras de heces con origen desconocido y no de los tratamientos experimentales.

La alimentación se ofreció una vez durante la mañana y otra en la tarde, la recolecta de heces se realizó dos veces al día. La alimentación de la mañana se proporcionó a las 9:00h, después de realizada la limpieza de las cajas, el alimento no ingerido se eliminó una hora después, una vez eliminado el alimento, se dejó transcurrir una hora y treinta minutos para realizar la recolecta de las heces de los tratamientos por sifoneo. Por la tarde a las 14:00h horas se realizó la segunda alimentación, siguiendo el mismo procedimiento de la mañana. Durante la noche no se proporcionó alimento para evitar una perturbación del sistema.

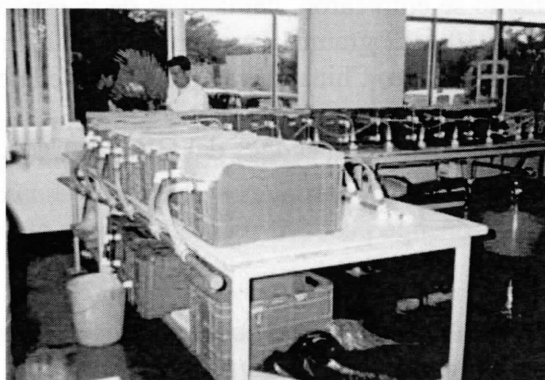
Después de la recolecta de heces, éstas se lavaron con agua destilada para eliminar la sal proveniente del agua del sistema, las heces se colocaron en pequeñas charolas de aluminio, y se secaron en un Horno a 105°C durante 12h.

Una vez secadas las heces se dejaron enfriar, y se trasladaron a un recipiente herméticamente cerrado hasta obtener aproximadamente 2.5 gramos de heces. Las heces se almacenaron a temperatura de congelación de menos 20 °C, hasta su respectivo análisis.

Según Choubert, 1982, citado por Mendoza Roberto, 1993, el simple hecho de conservar las heces a temperatura de congelación, evita la proliferación bacteriana y su eventual interferencia con la digestión.

Las heces encontradas en la mañana siguiente en las cajas, no se recolectaron, debido a que tienen alta probabilidad de estar significativamente lixiviadas.

*Fig. 3.-Dispositivo experimental utilizado en la evaluación de los alimentos.*



#### **4.3. Desarrollo de la técnica.**

**Cuantificación del óxido de cromo en heces y alimentos (Furukawa y Tsukahara, 1966). Hernández (2002).**

Para el análisis de digestibilidad aparente, es necesario determinar la concentración de óxido de cromo tanto en el alimento como en las heces. En el presente trabajo se empleó el método propuesto por Furukawa y Tsukahara (1966). En el cual se manejan micromuestras durante la determinación del contenido del óxido de cromo.

#### **Reactivos**

Ácido nítrico concentrado

Ácido perclórico (grado reactivo)

## **Materiales y Equipos**

Espectrofotómetro

Microdigestor Kjeldahl

Matraces Kjeldahl de 100 ml

Matraces volumétricos de 25 ml

## **Procedimientos**

- 1) Muela finamente el alimento y las heces, a las cuales se les habrá eliminado previamente cualquier material extraño; manténgalos a sequedad.
- 2) Pesar con precisión de 0.0001 g de 50 a 100 miligramos de muestra, colocándola en el matras Kjeldahl de 100 ml.
- 3) Adicione 5 ml de ácido nítrico concentrado ( $\text{HNO}_3$ ) y llevar a ebullición suave por un tiempo mínimo de 30 minutos hasta que desaparezcan los vapores amarillentos.
- 4) En caso que disminuya notablemente la cantidad de líquido y continúe habiendo vapores nitrosos, adicione 5 ml de ácido nítrico y siga digiriendo. Al terminar la digestión, la solución debe ser clara, de color verdoso y no debe desprender vapores ocres. Deje enfriar.
- 5) Ya fría la solución, agregar cuidadosa resbalando por las paredes del matraz 3 ml, de ácido perclórico. Realizar la adición dentro de la campana de extracción y con mucho cuidado, ya que en caso de una digestión incompleta se puede presentar una reacción explosiva.
- 6) Coloque nuevamente el matraz en el digestor y continúe la ebullición hasta que la solución vire de verde a amarillo limón; apague el digestor y deje enfriar.
- 7) Ya frío debe de formar un anillo rojizo en el borde del líquido; en caso de no formarse o si el líquido se torna verde nuevamente, volver a digerir hasta que el cambio sea permanente.
- 8) Pase el líquido frío a un matraz volumétrico de 25 ml, enjuagando el matraz Kjeldahl varias veces con agua destilada y afore. Ajuste a 0 el espectrofotómetro con un blanco reactivos y leer a 350 nm. El blanco se prepara simultáneo a las muestras usando solamente los ácidos y agua destilada.

## Cálculos

Calcule la cantidad de óxido de cromo (mg) presente en la muestra:

$$X = ((Y - 0.0032)/0.2089)0.25$$

**Donde:**

Y = absorbancia

0.0032 y 0.2089 son constantes

Calcule el % de óxido de cromo en la muestra:

$$\text{O.C.\%} = 100(X/A)$$

**Donde:**

X = peso del óxido de cromo

A = peso de la muestra

**La digestibilidad se calculará empleando la ecuación propuesta por Mainard y Loosli (1969).**

$$\text{Digestibilidad de Materia Seca} = 100 - 100 \times \left( \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Heces}} \right)$$

$$\text{Digestibilidad del Nutriente} = 100 - \left[ 100 \times \left( \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Heces}} \times \frac{\% \text{Nutrientes en heces}}{\% \text{Nutrientes en dieta}} \right) \right]$$

Los resultados que se obtenga de estas ecuaciones se compararan con la siguiente, escala de digestibilidad

80 – 85, Bueno

85 – 90, Muy bueno

95 – 100, Excelente

## 4.4 Análisis estadístico

Para el análisis, de los resultados de digestibilidad de materia seca y digestibilidad proteica, se utilizó una hoja de cálculo de medias independientes, que utiliza la prueba de Fisher para comparar las varianzas y la Prueba de T(Student), para comparar las medias y así determinar, si existe o no, diferencias significativas entre las digestibilidades obtenidas, de

las dos dietas en estudio.

## V. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

En la aplicación de la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966) para la determinación del nivel de digestibilidad en alimentos para camarón, se realizaron análisis bromatológicos a los dietas.

### 5.1 Resultados de los análisis de la composición nutricional de las dietas

**Tabla No. 1 Resultados de los Análisis Bromatológicos de las Dietas.**

	Resultados en %				
Análisis	Proteína	Grasa	Cenizas	Humedad	Carbohidratos
Método	Micro-Kjeldahl	Goldfisch	Seco	Secado	Por diferencia
<b>Dieta CIDEA</b>	26.79	3.73	10.33	8.31	50.84
<b>Dieta Comercial</b>	28.35	3.22	9.38	7.72	51.33

En la tabla No. 1. Se presentan los resultados en base húmeda, de los análisis Bromatológicos realizados a los alimentos evaluados en la aplicación de la técnica.

### 5.2 Procedimiento de aplicación de la técnica de Cuantificación del Óxido de Cromo (Furukawa y Tsukahara, 1966). Hernández (2002). Desarrollada en el Área de Nutrición y Alimentación del CIDEA-UCA.

#### Reactivos

Ácido nítrico concentrado 50-70%,  $\text{HNO}_3$ , marca Fisher.

Ácido perclórico 70%,  $\text{HClO}_4$ , marca Fisher

Óxido de Cromo,  $\text{Cr}_2\text{O}_3$ , marca J.T.Baker.

#### Materiales y Equipos

Balanza analítica OHAUS, 0.1 mg, Max: 110 g.

Microdigestor Kjeldahl. LABCONCO

Campana Extractora de Gases. LABCONCO

Espectrofotómetro, Smart SPS 3000.

Matraces Kjeldahl de 100 ml

Matraces volumétricos de 25 ml

Pipetas

Guantes

#### Procedimientos



- 1) Se pulverizó finamente el alimento y las heces, a las cuales se les eliminó previamente cualquier material extraño; se mantuvieron a sequedad.
- 2) Se pesó con precisión de 0.0001 g de 50 a 100 mg de muestra y se colocaron en el matras Kjeldahl de 100 ml. Las muestras se trabajaron por triplicado.
- 3) Se adicionó a los balones 5 ml de ácido nítrico concentrado ( $\text{HNO}_3$ ), los cuales se depositaron en las resistencias del Microdigestor Kjeldahl, ubicando el indicador de temperatura del equipo en 2.5, para obtener una ebullición suave, por un tiempo aproximadamente de una hora, hasta la desaparición, de los vapores amarillentos. Con calentamiento por encima de 2.5, se producía una rápida evaporación del ácido nítrico.
- 4) Durante este procedimiento se disminuía notablemente la cantidad de líquido ( $\text{HNO}_3$ ), y si continuaba habiendo vapores nitrosos, se procedía a adicionar 5 ml de ácido nítrico, y se continuaba la digestión.
- 5) La digestión se finalizó, una vez, que la solución se tornaba clara, de color verdoso y no se desprendían los vapores ocreos. Se dejó enfriar.
- 6) Ya fría la solución, se agregó cuidadosa resbalando por las paredes del matraz 3 ml, de ácido perclórico. Esta operación se realizó dentro de la campana de extracción, con mucho cuidado, ya que en caso de una digestión incompleta se puede presentar una reacción explosiva.
- 7) Se colocó nuevamente el matraz en el digestor, localizando el indicador de temperatura del equipo en 6 y se continuó la ebullición hasta que la solución viró de verde a amarillo limón; se apagó el digestor y se dejó enfriar.
- 7) Ya frío, se formó un anillo rojizo en el borde del líquido; en caso de no formarse, si el líquido se torna verde nuevamente, se debe volver a digerir hasta que el cambio sea permanente.
- 8) El líquido frío, se transfirió a un matraz volumétrico de 25 ml, enjuagando el matraz Kjeldahl tres veces con agua destilada y se aforó. La solución se dejó reposar 10 minutos.
- 9) Se ajustó a 0 el espectrofotómetro con agua destilada y se leyó a 350 nm. El blanco se preparó simultáneo a las muestras usando solamente los ácidos y agua destilada.

### **Cálculos**

Cálculo de la cantidad de óxido de cromo (mg) presente en la muestra:

$$X = ((Y - 0.0032)/0.2089)0.25$$

**Donde:**

$Y$  = absorbancia

0.0032 y 0.2089 son constantes

Calculo del % de óxido de cromo en la muestra:

$$\text{O.C.\%} = 100(X/A)$$

**Donde:**

$X$  = peso del óxido de cromo

$A$  = peso de la muestra

La digestibilidad se calculará empleando la ecuación propuesta por Mainard y Loosli (1969).

$$\text{Digestibilidad de Materia Seca} = 100 - 100 \times \left( \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Heces}} \right)$$

$$\text{Digestibilidad del Nutriente} = 100 - \left[ 100 \times \left( \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Heces}} \right) \times \frac{\% \text{Nutrientes en heces}}{\% \text{Nutrientes en dieta}} \right]$$

Los resultados que se obtenga de estas ecuaciones se compararan con la siguiente, escala de digestibilidad

80 – 85%, Bueno  
85 – 90%, Muy bueno  
95 – 100%, Excelente

### 5.3 Elaboración de la curva de calibración.

**Óxido de cromo, en SmarSpect 3000, lecturas a 350 nm.**

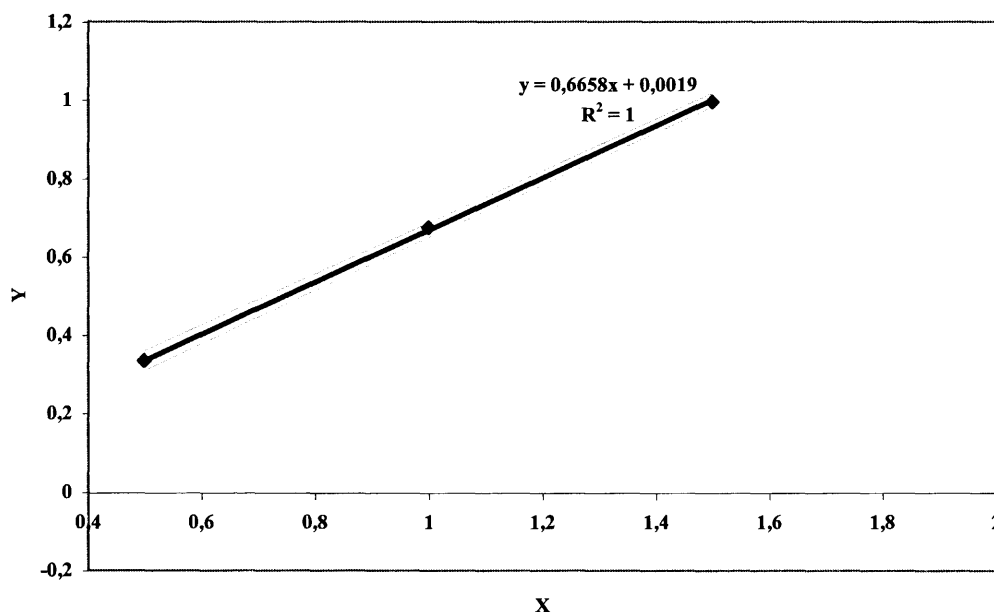
**Tabla No. 2 Datos para la realización de la curva de óxido de cromo.**

<b>Datos para la curva de calibración.</b>	
<b>(X) mgCr<sub>2</sub>O<sub>3</sub></b>	<b>(Y) Abs</b>
0,00	0,0000
0,50	0,3340
1,00	0,6750
1,50	0,9960

**Tabla No.3 Regresión lineal simple, limite de detección****FECHA: 03/03/2007**

<b>mg de oxido de cromo</b>	<b>absorbancia</b>		
<b>a (Intercepto)</b>	0,00190	<b>r</b>	0,99993
<b>b (pendiente)</b>	0,66580	<b>R<sup>2</sup></b>	0,99986
<b>Varianza residual</b>	3,94E-05	<b>Desviación Estándar de x/y</b>	0,00627
<b>Desviación Estándar de la Pendiente</b>	0,00561	<b>Intervalo de Confianza de la pendiente</b>	0,02414
<b>Desviación Estándar del Intercepto</b>	0,00525	<b>Intervalo de Confianza del Intercepto</b>	0,02258
<b>Límite de Detección</b>	0,02	<b>Límite de Cuantificación</b>	0,08

En la tabla No.3 se presentan los resultados de la regresión lineal simple, limite de detección, al procesar los datos de la curva de calibración, para el oxido de cromo, donde **r**, es el coeficiente de correlación, el cual indica la relación lineal entre las variables, y **R<sup>2</sup>**, es el coeficiente de determinación, y se define como la proporción de la variación total de la variable dependiente Y, que se explica, o se debe a la variación en la variable independiente X.

**Gráfico No. 1**

En el gráfico No.1, se presenta la curva estándar que se obtuvo y la ecuación de regresión lineal derivada de ésta, con un  $R^2 = 1$ , el cual se define como excelente.

#### 5.4 Cálculos

Una vez obtenida la curva calibración del óxido de cromo, se procedió a realizar los cálculos para la determinación de la digestibilidad de materia seca y proteína, a través de las siguientes ecuaciones propuestas por Mainard y Loosli (1969).

$$\text{Digestibilidad de Materia Seca} = 100 - 100 \times \left( \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Heces}} \right)$$

$$\text{Digestibilidad del Nutriente} = 100 - \left[ 100 \times \left( \frac{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Dieta}}{\% \text{Cr}_2\text{O}_3 \text{ en Heces}} \times \frac{\% \text{Nutrientes en heces}}{\% \text{Nutrientes en dieta}} \right) \right]$$

#### 5.5 Digestibilidad de materia seca

**Tabla No.4. Resultados de Digestibilidad de materia seca de las dos dietas.**

X1 (%)	X2 (%)
74,47	71,27
72,85	68,59
73,47	70,09
<b>promedio: 73.60</b>	<b>promedio : 69.98</b>

**X1:** Valores de digestibilidad de materia seca, Dieta experimental

**X2:** Valores de digestibilidad de materia seca Dieta comercial

En la tabla No. 4. se presentan los resultados de digestibilidad de materia seca en las dos dietas, Dieta experimental y Dieta comercial, observándose que la dieta experimental presentó una mejor digestibilidad de los nutrientes que la componen, que la dieta comercial.

#### Escala de digestibilidad

- 80 – 85 %, Bueno
- 85 – 90 %, Muy bueno
- 95 – 100 %, Excelente

Al comparar los resultados de digestibilidad de materia seca de las dos dietas, con relación, a la escala de digestibilidad, en la que se califican niveles de buenos, muy buenos y excelente, se encontró que las dos dietas, no presentaron un nivel adecuado, debido a que los valores

obtenidos están por debajo del valor indicativo de digestibilidad catalogada como buena, la cual corresponde a un nivel con rango de 80-85%. La dieta que presentó una mejor digestibilidad de materia seca, fue la experimental, con promedio de 73.60%. Los valores en porcentaje obtenidos para ambas Dietas son similares a lo encontrado por Cruz L. Atimo J. *et al* 2000. En su estudio reporta valores de 68 a 75% para materia seca en dietas experimentales, en otro estudio de digestibilidad de dietas comerciales Cruz L. Ricque D. J. *et al* 2002 encontraron valores de 65 – 74%.

**Tabla No.5. Comparación de medias independientes**

Comparación de 2 medias observadas sobre 2 muestras independientes			
		X1	X2
	tamaño:	3	3
parámetros introducidos :	media:	73,59768	69,98356612
	varianza:	0,665972	1,800590553
	estimada		
condiciones de validez de los tests : Las variables en estudio X1 y X2 deben ser normales			
test previo de igualdad de las varianzas : test de Fisher			
cálculo del estadístico de Fisher : $(s2/s1)^2 =$		2,703704	GL numerador.: 2
en $\alpha = 5\%$ F0.95 es:		19	GL denominador.: 2
		à 5% el test no es significativo	
Conclusión : las varianzas son iguales			

Según la tabla No. 5, al comparar las medias de las dos dietas para valorar si las varianzas son iguales, a través de la prueba de dos colas o prueba bilateral de Fisher, con un nivel de confianza de 95%, se encontró que no existe diferencia significativa entre las varianzas, es decir las varianzas son iguales para la media de las dos dietas, por lo que se procedió aplicar la prueba de T(Student).

**Tabla No. 6. Test de medias independientes con varianzas iguales**

<b>Test de medias independientes con varianzas iguales :</b>		
hipótesis del bilateral :	<b>Ho : EX1 = EX2</b>	
	<b>H1 : EX1 &gt; EX2</b>	
estimación de la varianza total :	$s^2 =$	<b>1,233281213</b>
Grados de libertad de la ley de STUDENT :	GL =	<b>4</b>
Parámetro tc calculado :	<b>tc =</b>	<b>3,99</b>
	$\alpha/2 =$	<b>2,50%</b>
Valor de t de tablas al 5% de significancia	: t (0.975, GL) =	<b>2,776</b>
<b>Conclusión --&gt;</b>		<b>LAS MEDIAS SON DIFERENTES</b>

En la tabla No. 6, se reflejan los resultados del test de medias independientes o prueba de T(Student), la cual se aplica para varianzas iguales. Al realizar los cálculos, se determinó que las medias, de la dieta experimental y dieta comercial para la digestibilidad de materia seca, presentaron diferencias significativa, para un nivel de confianza del 95%, lo que indica que

la digestibilidad de la dieta experimental que es la que presentó, una mejor digestibilidad es diferentes significativamente a la digestibilidad de materia seca de la dieta comercial.

## 5.6 Digestibilidad de Proteína

**Tabla No.7. Resultados de Digestibilidad Proteica**

X1 (%)	X2 (%)
34,64	89,84
33,88	86,89
33,40	86,49
<b>Promedio: 33.97</b>	<b>Promedio: 87.74</b>

**X1: Valores de digestibilidad proteica, dieta experimental.**

**X2: Valores de digestibilidad proteica, dieta Comercial.**

En la tabla No. 7. se presentan los resultados de los valores en porcentajes obtenidos de digestibilidad de proteína de las dos dietas, Dieta experimental y Dieta comercial, se observa que la dieta comercial presentó una mejor digestibilidad de la proteína bruta.

Al comparar estos resultados de digestibilidad proteica de la dieta comercial con la escala de digestibilidad, se encontró que los valores de digestibilidad de la dieta comercial, están dentro de la escala, 85 – 90%, catalogado como muy bueno, siendo el valor promedio obtenido para esta dieta de 87.74%. Cruz L, Ricque D. J. *et al* 2002. obtuvieron valores de 65-83% de digestibilidad de proteína en alimentos comerciales. En el caso de la Dieta experimental, presentó valores de digestibilidad proteica, que están por debajo de los valores que califican a una dieta como buena, siendo su valor promedio obtenido de 33.97%, lo que indica que la proteína bruta contenida en esta dieta fue poco digerible. Al comprar este resultado, con los valores obtenidos por Cruz L, Atimo J. *et al* 2000. en dietas experimentales son totalmente diferentes ya que ellos obtuvieron valores de 92%.

**Tabla No.8. Comparación de medias independientes**

Comparación de 2 medias observadas sobre 2 muestras independientes			
		X1	X2
	tamaño:	3	3
parámetros introducidos :	media:	33,97256	87,74262047
	varianza:	0,388573	3,344963323
	estimada		
condiciones de validez del tests : Las variables en estudio X1 y X2 deben ser normales			
<b>test previo de igualdad de las varianzas : test de Fisher</b>			
Cálculo del estadístico de Fisher : $(s2/s1)^2 =$		<b>8,60832</b>	GL numerador.: <b>2</b>
en $\alpha = 5\%$ $F_{0.95}$ es:		<b>19</b>	GL denominador.: <b>2</b>
à 5% el test no es significativo			
<b>Conclusión :</b> las varianzas son iguales			

Según la tabla No. 8, al comparar las medias de las dos dietas a través de la prueba de dos

colas o prueba bilateral de Fisher, con un nivel de confianza de 95%, se encontró que no existe diferencia significativa entre las varianzas, es decir las varianzas son iguales para la media de las dos dietas, por lo que se procedió aplicar la prueba de T(Student).

**Tabla No. 9. Test de medias independientes con varianzas iguales.**

<b>Test de medias independientes con varianzas iguales :</b>	
hipótesis del bilateral :	<b>Ho : EX1 = EX2</b>
	<b>H1 : EX1 &lt; EX2</b>
estimación de la varianza total :	$s^2 = 1,866768313$
Grados de libertad de la ley de STUDENT :	GL = 4
Parámetro tc calculado :	<b>tc = 48,20</b>
	$\alpha/2 = 2,50\%$
Valor de t de tablas al 5% de significancia	: t (0.975, GL) = 2,776
<b>Conclusión --&gt;</b>	<b>LAS MEDIAS SON DIFERENTES</b>

En la tabla No. 9, se reflejan los resultados del test de medias independientes o prueba de T(Studnt), la cual se aplica para varianzas iguales. Al realizar los cálculos, se determinó que las medias, de las dieta experimental y dieta comercial para la digestibilidad de proteína, presentaron diferencias significativa, para un nivel de confianza del 95%, lo cual se interpreta que debido a que la dieta comercial, presentó una mejor digestibilidad proteica, con valores de de 86.49 - 89.84%, son significativamente diferente a los valores encontrados a en la dieta experimental.

## VI. CONCLUSIONES

Se logró aplicar la técnica de Furukawa y Tsukahara (1966) para determinar la calidad de dos dietas balaceada para camarón mediante medición del nivel o porcentaje de digestibilidad de materia seca y proteína.

El porcentaje de digestibilidad de materia seca, indica el nivel de digestibilidad de los nutrientes que componen las dietas, los resultados en las dos dietas están por debajo del nivel mínimo de calidad, según los resultados, la dieta experimental presentó mejor digestibilidad, el valor medio de esta dieta, fue diferente significativamente al de la dieta comercial.

Con relación, a la digestibilidad de proteína, la dieta comercial presentó una mejor digestibilidad proteica, su valor promedio la califica como una dieta de muy buena calidad, y la hace diferente significativamente de la Dieta experimental, los valores encontrados para la dieta experimental, están por debajo de la digestibilidad catalogada como buena.

## VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Cruz, Elizabeth; Antimo, J. *et al.* 2000. Relaciones proteína/energía y proteína vegetal/animal óptimas en alimentos de engorda para *Litopenaeus vannamei* y *L. stylirostris*. Programa Maricultura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León.
2. Cruz, Elizabeth; Ricque D. *et al.* 2002. Historia y estatus actual de la digestibilidad y algunas características físico-químicas de los alimentos comerciales para camarón usados en México. Programa Maricultura, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León.
3. Hernández, Crisantema. 2002. Proyecto de Fertilidad Acuática. Programa de Cooperación del gobierno de Japón a través de terceros Países.
4. Mendoza, Roberto. 1993. Memorias del Primer Simposio Internacional de Nutrición y tecnología de alimentos para Acuicultura.
5. Lind, Doauglas. Sin año. Estadística para administración y economía. Tercera Edición.
6. Nieto, L. Martha; Cruz, S. Lucía. 2005. Técnica de digestibilidad in vitro en ingredientes y alimentos para camarón. CIENCIA UANL / VOL. VIII, No. 1, Enero-Marzo.



# ANEXOS

## FLUJOGRAMA DEL PROCEDIMIENTO

